

INFECTIVIDAD DE *STRELKOVIMERMIS SPICULATUS* (NEMATODA, MERMITHIDAE) EN *CULEX PIPIENS* (DIPTERA, CULICIDAE)

Nora B. Camino^{1,2}
Guillermo R. Reboredo¹

ABSTRACT

INFECTIVITY OF *STRELKOVIMERMIS SPICULATUS* (NEMATODA, MERMITHIDAE) IN *CULEX PIPIENS* (DIPTERA, CULICIDAE). *Strelkovimermis spiculatus* Poinar & Camino, 1986 has drawn considerable interest as a potencial biological control agent against mosquitoes. Larvae of *Culex pipiens* Wiedemann, 1828 exposed by instar show a comparative infectivity. First and second instar larvae of *Cx. pipiens* are similar in their infections, reaching 80% of parasitism. Third-instar larvae presented approximately 52 % of parasitism, and fourth instar only 38 %. In mixed larval stages, of *Cx. pipiens* exposed to *S. spiculatus*, infection levels reached almost 60 % in all cases.

KEYWORDS. Infectivity, Mermithidae, *Strelkovimermis spiculatus*, Culicidae, *Culex pipiens*.

INTRODUCCION

El mermítido *Strelkovimermis spiculatus* Poinar & Camino, 1986 es el único nemátodo parásito de mosquitos en Argentina que hasta el presente pudo colonizarse en el laboratorio. El resultado de la infección con este mermítido es letal para las larvas de mosquitos, pudiendo así parasitar a otras especies de insectos como *Aedes albifasciatus* (Macquart, 1836), *Ae. crinifer* (Theobald, 1903), *Culex maxi* Dyar, 1928, *Cx. dolosus* (Lynch Arribalzaga, 1891) y *Psorophora ferox* (Von Humboldt, 1819). Muchos ensayos han sido realizados en laboratorio bajo diferentes condiciones físicas y biológicas a fin de evaluar al mermítido como un agente alternativo de control biológico, por ejemplo, el efecto del parasitismo múltiple en la determinación del sexo en *S. spiculatus* (CAMINO, 1988); el crecimiento larval (CAMINO & GARCIA, 1988); la influencia de la salinidad y el pH en el parasitismo (CAMINO & GARCIA, 1991) y la variación en el número de hospedadores, en el número de parásitos y el tiempo de contacto entre parásito y hospedador (CAMINO & GARCIA, 1992).

El presente se refiere al grado de infectividad que presenta *S. spiculatus* en los distintos estadios larvales del mosquito *Culex pipiens* Wiedemann, 1828.

1. Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), Calle 2 n° 584, 1900 La Plata, Argentina.
2. Investigador CIC.

MATERIAL Y METODOS

Las formas pre-parásitas del nemátodo y las larvas del mosquito utilizadas se obtuvieron de las colonias respectivas de *S. spiculatus* y *Cx. pipiens*, mantenidas en bioterios. La colonia del mosquito se originó a partir de colectas de individuos en cuerpos de agua permanentes y semipermanentes de las localidades de Ringuet y Punta Lara, Argentina. Esa colonia fue enriquecida periódicamente (cada tres meses) con la introducción de nuevos especímenes colectados de los mismos lugares a fin de conservar la variabilidad genética. Estos nuevos especímenes se aislaron y una vez determinada la ausencia de patógenos y parásitos, se incorporaron a la colonia. La colonia del mermítido se estableció de acuerdo a la técnica de PETERSEN & WILLIS (1972), pero con las modificaciones en el tiempo de inundación para obtener las formas infectantes del medio de cultivo, que para el caso demandó 3 semanas.

Las infecciones se realizaron utilizando 100 larvas de mosquito de primero, segundo, tercero y cuarto estadios larvales, colocados por separado en recipientes conteniendo 500 ml de agua corriente; además se apartaron 4 grupos con 25 larvas de cada estadio en recipientes con igual volumen de agua. Todos los recipientes fueron puestos en contacto con la forma infectante del nemátodo en una relación de 12:1 parásito:hospedador (CAMINO & GARCIA, 1992). El tiempo de exposición fue de 24 horas a 20°C con un fotoperíodo de 12:12. Se realizaron 8 repeticiones contando cada una con sus respectivos testigos. La mortalidad larval se determinó bajo microscópio estereoscópico para corroborar la infección.

Para la estadística se usó el análisis de varianza Anova (SOKAL & ROHLF, 1995) a fin de hallar diferencias significativas existentes entre los porcentajes de parasitismo de cada uno de los estadios larvales de mosquito por separado y cuando se hallan mezclados. Factores de significancia en Anova fueron evaluados con LSD ($P = 0,05$). Los valores promedios fueron transformados (raíz cuadrada [arcoseno x]) antes del análisis para homogeneizar la varianza; además se realizó el análisis de box-plots.

Tabla I. Porcentajes de parasitismo de *Strelkovimermis spiculatus* en los cuatro estadios larvales, tratados por separado y mezclados de *Culex pipiens*.

Nº de Repeticiones	Porcentaje de parasitismo por estadios				Mezclados
	Primero	Segundo	Tercero	Cuarto	
1	76	84	59	37	60
2	90	78	65	35	56
3	86	88	40	42	66
4	74	85	32	39	64
5	88	80	61	13	58
6	80	86	63	59	54
7	72	76	52	45	62
8	66	79	44	34	60
X	79	82	52	38	60
SD±	7,93	4,03	11,33	12,03	3,74

RESULTADOS

Los dos primeros estadios larvales de *Cx. pipiens* son más susceptibles al parasitismo de *S. spiculatus* (80%) que el tercero (52%), siendo el cuarto (38%) el más resistente a la infección (tab. I, fig. 1).

Se observa una marcada diferencia en la infectividad entre los estadios larvales por separado y mezclados (tab. I, fig. 1), destacándose las diferencias entre primero y segundo del tercero y cuarto. Las infecciones obtenidas con los cuatro estadios larvales mezclados presentan un porcentaje de parasitismo de alrededor del 60%. El cuarto estadio resulta ser menos susceptible a la infección, ya que se encuentra próximo al estado de pupa; cuando se realizan infecciones en este estadio los nemátodos emergen directamente de los mosquitos adultos de ambos sexos.

El test estadístico de Anova muestra que la infectividad de los nemátodos fue altamente significativa si comparamos cada estadio larval del mosquito ($F = 10,03$; $P =$

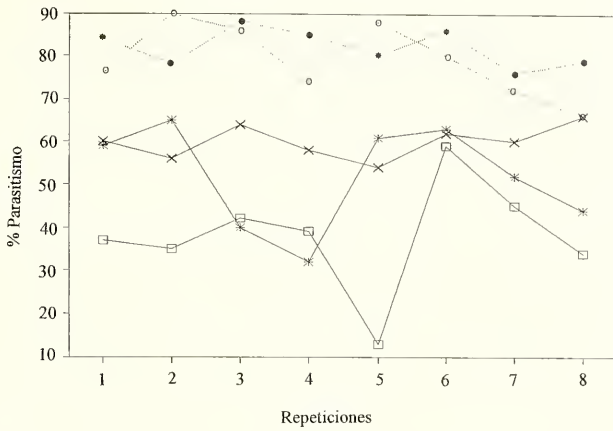


Fig. 1. Comparación de los porcentajes de parasitismo de *Strelkovimermis spiculatus* en cada estadio larval y en estadios mezclados de las larvas de *Culex pipiens*. (○, primero estadio; ●, segundo estadio; *, tercero estadio; □, cuarto estadio; X, estadios mezclados).

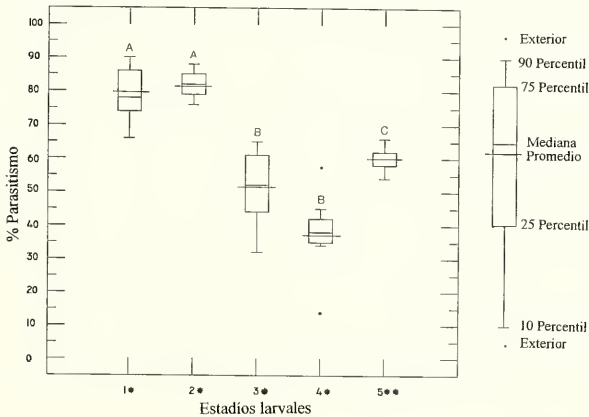


Fig. 2. Porcentajes de parasitismo de *Strelkovimermis spiculatus* en diferentes estadios larvales de *Culex pipiens*. Test de Anova (* estadios larvales; ** los cuatro estadios larvales mezclados; A, promedios no significativos ($P > 0,05$); B, promedios significativos ($P = 0,05$); C, promedios altamente significativos ($P < 0,0001$)).

0,0001) (fig. 2). Los niveles de infección para los dos primeros estadios larvales no fueron significativos ($F = 0,16$; $P = 0,70$), debido a que estos estadios son los más susceptibles a *S. spiculatus*, alcanzando un alto porcentaje de parasitismo (fig. 2). Para el tercero y cuarto estadios larvales del mosquito fue significativo ($F = 4,61$; $P = 0,05$), ya que éstos fueron menos susceptibles a la infección, observándose bajo porcentaje de parasitismo (fig. 2). Si comparamos los dos primeros estadios larvales con el tercero y cuarto estadio se observa

una alta significancia ($F = 27,76$; $P = 0,0002$), esto se debe a la infectividad diferencial de éstos. Al mezclar los estadios larvales de *Cx. pipiens* y exponerlos al nemátodo, el grado de infección fue significativamente más alto con relación al cuarto estadio considerado separadamente ($F = 34,30$; $P = 0,0001$) (fig. 2), debido a que cuando los estadios larvales del mosquito se hallan mezclados aparece una infectividad diferente a la encontrada en los estadios considerados por separado y sobre todo con el cuarto estadio.

DISCUSION

PETERSEN (1981) en una experiencia similar con el mermítido *Romanomermis culicivorax* Ross & Smith, 1976 en *Culex pipiens*, encontró que el primero y segundo estadios, considerados separadamente, mostraron una infectividad similar, como es el caso con *S. spiculatus*; y fue sólo en el tercero que el porcentaje de parasitismo fue de 50% menor respecto a los estadios anteriores. *S. spiculatus* si bien se observa una cierta resistencia, mostró una infectividad mayor que la de los dos casos anteriores; para el cuarto estadio PETERSEN (1981) obtuvo un bajo porcentaje que no superó el 9%, mientras que con *S. spiculatus* se obtuvieron un 59% como se observa en la sexta repetición.

En los estadios mezclados, *R. culicivorax* infectaba el primero y cuarto estadio larval en niveles de 35-38%, siendo bajo sí se consideran los del segundo y tercero estadio (71-75%). Porcentajes similares, de un 60 a un 63%, fueron obtenidos en nuestra experiencia para todos los casos en que se encontraban los distintos estadios mezclados. Esta información indica claramente que bajo condiciones de laboratorio la susceptibilidad es afectada por el estadio de desarrollo de la población larval del mosquito. En los criaderos naturales las larvas de *Cx. pipiens* se hallan en generaciones yuxtapuestas, por lo que en una aplicación a campo, el grado de infectividad de *S. spiculatus* tendría una expectativa de un 60% de parasitismo y no el 80% obtenido en condiciones de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- CAMINO, N.B. 1988. Efecto del parasitismo múltiple en la determinación del sexode *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae) en larvas de *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828. *Iheringia*, Sér. Misc., Porto Alegre, (2):93-97.
- CAMINO, N.B. & GARCIA, J.J. 1988. Crecimiento larval de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae) en *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828, como hospedador alternativo. *Iheringia*, Sér. Misc., Porto Alegre, (2):31-37.
- _____. 1991. Influencia de la salinidad y el pH en el parasitismo de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae) en larvas de *Culex pipiens* Wied. (Diptera: Culicidae). *Neotrópica*, La Plata, 37: 107-112.
- _____. 1992. Algunos factores que afectan el parasitismo de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae) en mosquitos (Diptera: Culicidae). *Neotrópica*, La Plata, 38:75-80.
- PETERSEN, J.J. 1981. Comparative susceptibility of larval mosquitoes exposed separately by instar or in mixed populations to the nemato de *Romanomermis culicivorax*. *J. Nematol.*, Lake Alfred, 13:228-229.
- PETERSEN, J.J. & WILLIS, O.R. 1972. Procedures for the mass rearing of a mermithid parasite of mosquitoes. *Mosq. News*, Sacramento, 32:226-230.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 1995. *Biometry*. New York, W.H. Freeman. 887 p.